نشریه دامپزشکی
(پژوهش و سازندگی)
شماره ۱۰۱، زمستان ۱۳۹۲

عفونت *Klossiella muris* در موش های آزمایشگاهی

• **حسین نورانی** (نویسنده مسئول)
گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهرکرد
• **سعید حبیبیان دهکردی**
گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهرکرد
• **راضیه گرامی**
دانش آموخته دوره دکترای عمومی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد

تاریخ دریافت: آبان ماه ۱۳۹۰ تاریخ پذیرش: اسفند ماه ۱۳۹۱
تلفن تماس نویسنده مسئول: ۰۹۱۳۱۸۵۸۷۱۹
Email:nourani_hossein@yahoo.com

چکیده

K.muris **در حالت طبیعی غیر بیماریزا بوده ولی در آلودگی های شـــدید با این تک یاخته، کانون های نکروزه و کوچک متمایل به خاکستری در سراسر سطح کلیه دیده می شود و سلول های بافت پوششی لوله های کلیه درگیر ممکن اســـت تخریب گردد. جهت تشخیص هیستوپاتولوژی عفونت تک یاخته *K.muris*، کلیه های ۲۴ موش آزمایشگاهی مورد مطالعه قرار گرفت که مراحل مختلف تکاملی تک یاخته کلوســـیلا در لوله های کلیه چهار موش (۱۶/۶۶ درصد) از ۲۴ موش، مشاهده شد. سیتوپلاسم سلول اپیتلیومی آلوده شـــده بسیار متسع بود و هسته آن به یک طرف ســـلول جابجا شده بود. با وجود این، در برخی موارد بافت پوششـــی لوله مشخص نبود و به نظر می رسید که انگل در داخل یک فضای کیستی قرار داشت. کانون های کوچکی از نفوذ لنفوسیت ها و پلاسما سل ها در بافت بینابینی کورتکس کلیه و نکروز و دی جنره شن سلول های پوششی لوله های کلیه در ارتباط با انگل در برخی مقاطع بافت شناســـی مشاهده شد. بر اساس گونه میزبان، ارگان درگیر شده و تظاهر مرفولوژیک، به عنوان *K.muris* شناخته شد. با توجه به حضور تک یاخته *K.muris* و پتانسیل بالقوه این تک یاخته در بوجود آوردن ضایعات آسیب شناسی و کاهش پاسخ ایمنی در برابر آنتی ژن های مختلف، رعایت شرایط بهداشتی در پرورش موش ها تاکید می گردد تا از اثرات کاذب کلوسیلا در تحقیقات پیشگیری نمود.**

کلمات کلیدی: ***Klossiella muris*** **، یافته های هیستوپاتولوژی، نفریت، موش**

Veterinary Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 101 pp: 9-12

Klossiella muris infection in laboratory mice

By: Nourani, H. (Corresponding Author; Tel: +989131858719) and Habibian Dehkordi, S. Department of Basic Science, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord University, Shahrekord, Iran. Gherami, R. Graduated Student, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord University, Shahrekord, Iran.

Received: November 2011 Accepted: March 2013

Klossiella muris is ordinarily nonpathogenic, although in heavy infections the kidneys may have minute grayish necrotic foci over their entire surface and the epithelium of the infected kidney tubules may be destroyed.

For histopathological diagnosis of *Klossiella muris* infection, kidneys of 24 mice were studied that Klossiella in various stages of development were observed in the renal tubules of 4 (16.66%). The cytoplasm of infected tubular epithelial cell was markedly distended and the nucleus was displaced to one side of the cell. In some instances, however, tubular epithelium was not discernible and the parasite seemed to lie in a cystic space. Small focal infiltrations of lymphocytes, plasma cells in the interstitium of the cortex and renal tubular epithelial cell degeneration and necrosis were seen in association with the parasite in some sections.

The parasite was identified as *Klossiella muris* based on host species, affected organ and morphological appearance. Due to the presence of *Klossiella muris* and its potential ability in creating histopathological lesions and reducing immune responses against different antigens, to prevent adverse effects and obtaining false results in different studies, sanitation during mice breeding is recommended and emphasized.

Keywords: *Klossiella muris,* Histopathological findings, Nephritis, Mice

مقدمه

کلوسیلا[1] تک یاخته ای از شاخه آپی کمپلکسا[2] می باشد. گونه های کلوسیلا از انگل های خوش خیم لوله های کلیه بوده که در حیوانات مختلف شناسایی شده است (۱۰). از مهم ترین گونه های این تک یاخته می توان به *K.equi* در اسب و سایر تک سمی ها همانند اسبچه (۱)، الاغ (۶) و گورخر (۱۱)، *K.muris* در موش و *K.cobayae* در خوکچه هندی اشاره کرد (۷). گزارشات متعددی از شناسایی گونه های مختلف کلوسیلا در حیوانات کیسه دار[3] استرالیا نیز وجود دارد (۳، ۴، ۱۰).

K.muris برای اولین بار در سال ۱۸۸۹ در کلیه های موش گزارش شد و در سال ۱۹۰۲ بیشتر مورد توصیف قرار گرفت. با وجود قدمت زیاد این تک یاخته در موش، اطلاعات کمی راجع به آن وجود دارد (۵).

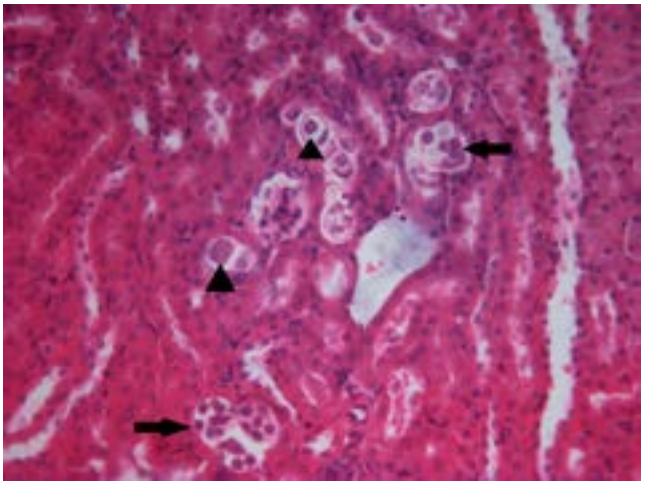
حیوانات آزمایشگاهی در بسیاری از طرح های تحقیقاتی، جایگاه ویژه ای دارند و از طرف دیگر مطالعات تجربی نشان می دهند که عفونت با *K.muris* می تواند در نتایج تحقیقات گوناگون تاثیر گذار باشد. در شرایط آزمایشگاهی آلودگی با این تک یاخته بندرت گزارش شده است (۵). در این مقاله آلودگی کلیه موش های آزمایشگاهی با *K.muris* و تغییرات میکروسکوپی آن توصیف می شود.

مواد و روش کار

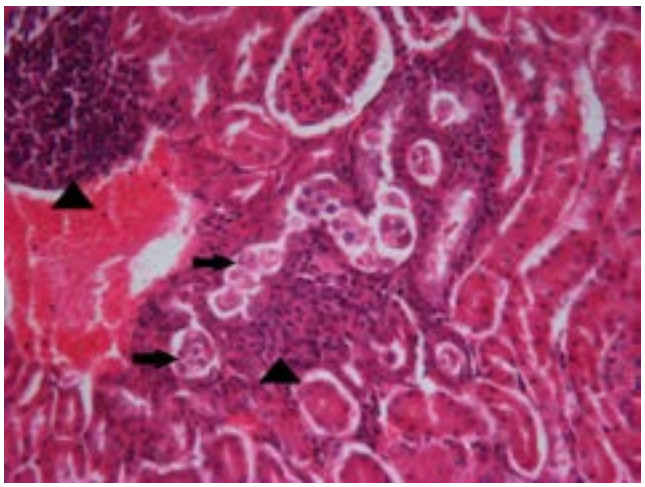
این مطالعه بر روی کلیه های ۲۴ موش آزمایشگاهی انجام گرفت. پس از پایدار شدن نمونه‌ها در فرمالین بافر ۱۰ درصد، آماده‌سازی بافت و تهیه قالب‌های پارافینی، مقاطعی به ضخامت ۵ میکرون بریده و به روش متداول هماتوکسیلین - ائوزین رنگ‌آمیزی شدند. سپس حضور تک یاخته، محل آن و ضایعات هیستوپاتولوژی مرتبط در کلیه ها، ثبت گردید.

نتایج

تعداد متوسطی از اشکال مختلف تکاملی تک یاخته کلوسیلا در لوله های کلیه چهار موش (۱۶/۶۶ درصد) از ۲۴ موش مطالعه شده، مشاهده شد که بر اساس گونه میزبان، ارگان درگیر شده و تظاهر مرفولوژیک، به عنوان *K.muris* شناخته شد. سیتوپلاسم سلول اپیتلیومی آلوده شده بسیار متسع بود و هسته آن به یک طرف سلول جابجا شده بود (شکل ۱). با وجود این، در برخی موارد بافت پوششی لوله مشخص نبود و به نظر می رسید که انگل در داخل یک فضای کیستی قرار داشت. کانون های کوچکی از نفوذ لنفوسیت ها و پلاسما سل ها در بافت بینابینی کورتکس و نکروز و دژنره شدن سلول های پوششی لوله های کلیه در ارتباط با انگل در برخی مقاطع بافت شناسی مشاهده شد (اشکال ۱ و ۲).



شکل ۱- اسپروسیست ها (پیکان ها) و سایر مراحل تکاملی *K.muris* (نوک پیکان ها) که در داخل سلول های پوششی لوله های کلیه دیده می شود. هیچ گونه واکنش آماسی در اطراف اشکال تک یاخته وجود ندارد (رنگ آمیزی هماتوکسیلین - ائوزین ۴۰ ×).



شکل ۲- نفریت بینابینی مزمن. نفوذ سلول های آماسی تک هسته ای و ضایعات مزمن (نوک پیکان ها) در اطراف مراحل مختلف تکاملی تک یاخته *K.muris* (پیکان ها) مشاهده می شود (رنگ آمیزی هماتوکسیلین - ائوزین ۴۰ ×).

بحث

هیستوپاتولوژی معمول ترین روش تشخیص عفونت با گونه های کلوسیلا در حیوانات مختلف، جوندگان و خزندگان بوده که در بیشتر مطالعات برخورد با این تک یاخته در بافت کلیه به صورت تصادفی می باشد (۱۱). در مطالعه حاضر میزان آلودگی کلیه موش ها ۱۶/۶۶ درصد بود که فاکتورهای متعددی می تواند بر روی آن تاثیر داشته باشد. میزان آلودگی با *K.muris* در جمعیت مختلف موش ها متغیر است به طوریکه در موش های صید شده از محیط طبیعی تا ۹۳ درصد نیز گزارش شده است ولی در شرایط آزمایشگاهی آلودگی با این تک یاخته بندرت گزارش شده است (۵).

در این مطالعه تک یاخته مشاهده شده در کلیه موش، کلوسیلا موریس معرفی شد زیرا نامگذاری گونه های کلوسیلا بر مبنای خصوصیات مرفولوژیکی تک یاخته، چرخه زندگی و حیوان درگیر شده می باشد. به عنوان مثال اگر تک یاخته کلوسیلا در کلیه یک تک سمی مشاهده گردد، *K.equi* نامگذاری می شود (۱۱).

انتقال تک یاخته *K.muris* هنگامی اتفاق می افتد که اسپروسیست های دفع شده در ادرار موش های آلوده توسط موش های سالم بلع گردد. به دنبال بلع اسپروسیست ها، شیزونت ها و مروزوئیت ها در آندوتلیوم عروق تشکیل می شوند و سپس مرحله گامتوگونی و تشکیل اسپروسیست ها در داخل بافت پوششی لوله های کلیه اتفاق می افتد و چرخه زندگی ادامه می یابد (۲). ارزیابی میکروسکوپی نمونه ادرار برای تشخیص اسپروسیست های تک یاخته کلوسیلا یک روش غیر حساس می باشد (۴) که نتایج متغیری داشته است. Suedmeyer و همکاران در سال ۲۰۰۶ با آنالیز مکرر ادرار نتوانستند اسپروسیست های این تک یاخته را تشخیص دهند (۱۱) در حالی که Reppas و Collins در سال ۱۹۹۵ با موفقیت توانستند اسپروسیست های *K.equi* را در ادرار اسب شناسایی نمایند. این محققین ذکر کردند که اسپروسیست های این تک یاخته در اثر محلول های شناورساز مدفوع تخریب می شوند و ارگانی سم ها را تنها بعد از آزمایش رسوب حاصل از سانتریفوژ نمونه های ادرار می توان مشاهده کرد (۹).

در مطالعه حاضر نفریت بینابینی و نکروز سلول های پوششی لوله های کلیه در ارتباط با انگل فقط در برخی مقاطع کلیه مشاهده شد که با ضایعات گزارش شده توسط سایر محققین همخوانی دارد. پرورش موش ها در شرایط غیر بهداشتی همانند رطوبت بالا و عدم تعویض بستر قفس ها، غذای ناکافی و درجه حرارت کنترل نشده باعث بروز بیماری کلوسیلوز می شود که با علائم عمومی همانند بی اشتهایی، کاهش وزن و مرگ و میر مشخص می شود ولی در تمامی مبتلایان در بررسی میکروسکوپی کلیه، نفریت بینابینی در اطراف مراحل تکاملی تک یاخته مشاهده می شود که ممکن است در حاشیه کانون های کوچک حاوی انگل، سلول های آماسی مشاهده نگردد (۸).

در یک مطالعه آلودگی شدید با تک یاخته کلوسیلا باعث نکروز لوله های کلیه و نفریت بینابینی شده است و پیشنهاد شده بود که احتمالاً تولید کورتیکواستروئید های داخلی در اثر هیپرپلازی ناحیه قشری غده فوق کلیوی، باعث سرکوب ایمنی و در نتیجه تکثیر گسترده این تک یاخته شده است (۱).

مطالعات نشان می دهند که عفونت تجربی با *K.muris* باعث

کاهش پاسخ های ایمنی سلولی و هومورال در برابر واکسیناسیون با پروتئین های مختلف و بزرگ شدن طحال می گردد. بنابراین موش های آلوده شده با این تک یاخته با القاء اختلالات ایمنی غیر اختصاصی باعث می شود که در مطالعات مرتبط با سیستم ایمنی مداخله نمایند (۵).

درمان عفونت های اندمیک *K.muris* با استفاده از کوکسیدیواستات ها انجام می گیرد که باعث کاهش چشمگیر بروز عفونت در مقاطع هیستولوژیک کلیه های موش می گردد ولی متاسفانه نوع ترکیب، دوز و روش استفاده شده ذکر نشده است (۵ ، ۸).

با توجه به حضور تک یاخته *K.muris* در مقاطع بافت کلیه موش های آزمایشگاهی و پتانسیل بالقوه این تک یاخته در بوجود آوردن ضایعات آسیب شناسی و کاهش پاسخ ایمنی در برابر آنتی ژن های مختلف، رعایت شرایط بهداشتی در پرورش موش ها تاکید می گردد تا از اثرات کاذب کلوسیلا در تحقیقات پیشگیری نمود.

پاورقی ها

1 - Klossiella
2 -Apicomplea
3 -Marsupials

منابع مورد استفاده

1 - Anderson, W.I., Picut, C.A. and Georgi, M.E., (1988) *Klosiella equi* induced tubular nephrosis and interstitial nephritis in a pony. *J. Comp. Pathol*. 98: 363-366.

2 - Austin, R.J. and Dies, K.H., (1981) *Klossiella equi* in the kidneys of a horse. *Can. Vet. J.* 22: 159-161

3 - Barker, I.K., Munday, B.L. and Hartley, W.J., (1985) Klossiella (Apicomplexa, Klossiellidae) in petaurid and macropodid marsupials in Australia. *J. Protozool.* 32(3): 520-522

4 - Bennett, M.D., Woolford, L., O'Hara, A.J., Nicholls, P.K., Warren, K.S., Friend, J.A. and Swan, R.A., (2007) *Klossiella quimrensis* (Apicomplexa: Klossiellidae) causes renal coccidiosis in western barred bandicoots *Perameles bougainville* (Marsupialia: Peramelidae) in Western Australia. *J. Parasitol*. 93(1): 89-92.

5 - Fox, J.W., Barthold, S.W., Davisson, M.T., Newcomer, C.E., Quimby, F.W. and Smith, A.L., (2007) *The Mouse in Biomedical Research, Diseases. Volume* 2, Second Edition, Academic Press, pp: 533-534.

6 - Karanja, D.N., Ngatia, T.A. and Wandera, J.G., (1995) Donkey klossiellosis in Kenya. *Vet. Parasitol*. 59(1): 1-5 .

7 - Mehlhorn, H. and Armstrong, P.M., (2001) *Encyclopedic Reference of Parasitology*. Published by Springer, pp: 329.

8 - Meshorer, A. (1970) Interstitial nephritis in the spiny mouse (*Acomys cahirinus*) associated with Klossiella sp. Infection. Laboratory Animals. 4: 227-232 .

9 - Reppas, G.P. and Collins, G.H., (1995) *Klossiella equi* infection in horses; sporocyst stage identified in urine. *Aust. Vet. J.* 72(8): 316-318 .

10 - Smales, L.R. and Obendorf, D.L., (1996) Protozoan parasites and pathological findings in *Hydromys Chrysogaster* (Muridae: Hydromyinae) from Queensland. *J. Wildlife Dis*. 32(2): 344-347.

11- Suedmeyer, W.K., Restis, E. and Beerntsen, B.T., (2006) *Klossiella equi* infection in a Hartmann's Mountain zebra (*Equus zebra hartmannae*). *J. Zoo Wildlife Med*. 37(3): 420-423.